

抗体精製用充填剤は、これで決まり！ (3)



プロテイン A 充填剤分離後は、陽イオン交換体で不純物を除去！

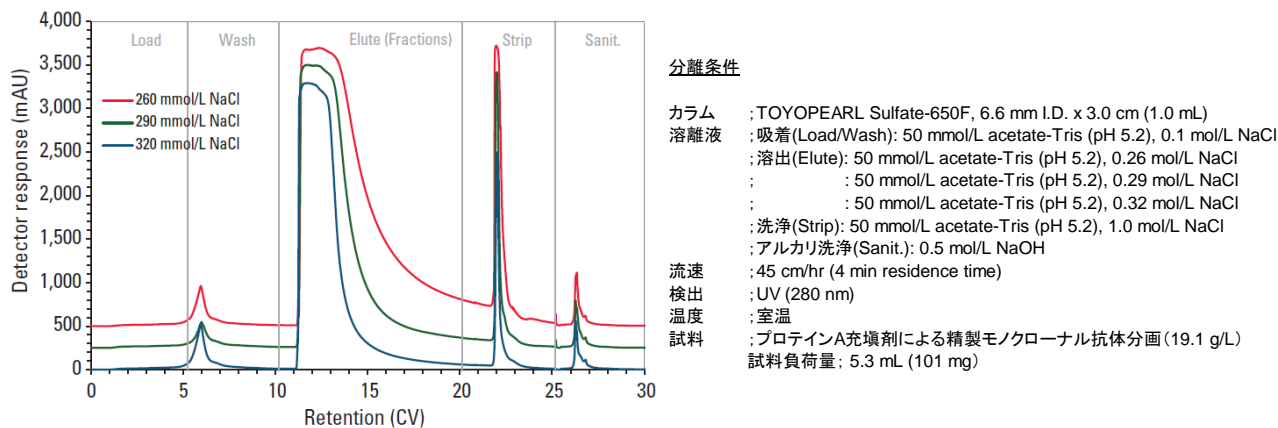
抗体医薬品の精製工程では、第一精製ステップのプロテイン A 充填剤によるアフィニティー分離が重要とされ、この精製工程だけで、抗体の純度は 95 %程度まで高めることができます。しかしながら抗体の医薬品としての純度としてはまだ不十分で、さらなるクロマトグラフィー工程で精製が必要です。主な不純物は、抗体の凝集体、抗体断片、宿主由来のたんぱく質(HCP)、DNA、ウイルス、プロテイン A 充填剤から漏出したプロテイン A リガンド等です。これらの不純物は、陰イオン交換体および陽イオン交換体(ミックスモード含む)、疎水用充填剤などで除去できます。陽イオン交換体を用いた精製では、吸着・脱着分離法で抗体を溶出させ、不純物を除去する方法が一般的です。

TOYOPEARL® Sulfate-650F は、硫酸エステル基を官能基とした塩耐性の陽イオン交換体で、抗体の吸着容量が多く、凝集体や宿主由来のたんぱく質、プロテイン A リガンド漏出物などを除去することができます。

TOYOPEARL Sulfate-650F の特長

- ・塩耐性(salt-tolerant)陽イオン交換体であり、高塩濃度の溶離液中でも、高い吸着容量を維持します
- ・充填剤の細孔径が大きく、抗体の凝集体、宿主由来たんぱく質(HCP)などの不純物を除去可能です
- ・アルカリ耐久性が高く、0.1 mol/L~0.5 mol/L NaOH で洗浄することで、繰返し使用が可能です
- ・ウイルス除去(クリアランス)も可能です
- ・初期検討、スクリーニング用カラムとして SkillPak™ (1 mL, 5 mL)を用意しています

●陽イオン交換体を用いた吸着・脱着分離法による抗体の精製例



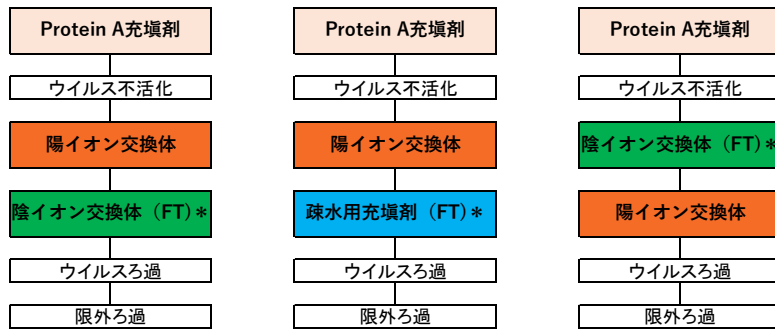
精製時の不純物等	プロテインA精製後	Sulfate-650F精製後
試料負荷量 (mg/mL充填剤)	48	101
単量体回収率(%)	n/a	83
二量体 (%)	3.90	2.40
凝集体 (%)	0.54	0.07
HCP (ppm)	1,260	134
プロテインA (ppm)	1.20	0.04

* プロテイン A 充填剤による精製は、TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F を使用

※大量の抗体試料を負荷 (100 mg/mL 充填剤)し、塩濃度 0.26 mol/L NaCl で溶出しました。その結果、凝集体、HCP、プロテイン A 漏出物などの不純物は減少し、その際の精製抗体の単量体の回収率が 83 %でした。

参考資料; Application Note; Increase monoclonal antibody purity with TOYOPEARL Sulfate-650F resin; Strong cation-exchange resin for capture and removal of mAb Aggregates, Tosoh Bioscience LLC (2016)

●抗体精製におけるプロテイン A 充填剤を含むクロマトグラフィー工程例



* FT(フローズン)モードの場合は、充填剤のグレードや抗体種に合わせ、溶離液の塩濃度など分離条件の最適化が必要(塩濃度を160 mmol/L 以上を推奨)

プロテイン A 充填剤	;	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F
陽イオン交換体	;	TOYOPEARL Sulfate-650F, GigaCap S-650M, GigaCap CM-650M TOYOPEARL MX-Trp-650M(陽イオン交換タイプのマルチモード用充填剤)
陰イオン交換体	;	TOYOPEARL NH ₂ -750F, GigaCap Q-650M, GigaCap DEAE-650M
疎水クロマトグラフィー用充填剤	;	TOYOPEARL Butyl-650/600M, Phenyl-650/600M, PPG-600M, Hexyl-650C

●TOYOPEARL Sulfate-650F の仕様

項目	規格
官能基	硫酸エステル基
イオン交換容量 (meq/L)	≧ 0.53
粒子径 (μm)	30 - 60
静的吸着容量 (IgG, g/L)	≧ 114
菌体数 (CFU/mL)	≦ 100
エンドトキシン (EU/mL)	≦ 10
異物	≦ 6
溶出物	≦ 0.2 %

●塩耐性陽イオン交換体 TOYOPEARL Sulfate-650F 製品一覧表

品番	品名	粒子径 (μm)	容量 ** (mL)	備考
0023468	TOYOPEARL Sulfate-650F	30 - 60	250 mL	充填剤 (ボトル)
0045205	SkillPak Sulfate-650F	30 - 60	1 mL x 5本	カラム
0045241	SkillPak Sulfate-650F	30 - 60	5 mL x 1本	カラム
0045227	SkillPak CIEX (TOYOPEARL GigaCap S-650S, GigaCap CM-650M, Sulfate-750F)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045228	SkillPak Antibody (TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, AF-rProtein L-650F, NH ₂ -750F, Sulfate-650F, GigaCap Q-650M, GigaCap S-650S)	-	1 mL x 6種類 x 1本	カラム
0045229	SkillPak mAb Platform (TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, NH ₂ -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045230	SkillPak Salt Tolerant (TOYOPEARL NH ₂ -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 2種類 x 3本	カラム
0045232	SkillPak Best-in-Class (Ca ⁺⁺ Pure-HA*, TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, AF-rProtein L-650F, NH ₂ -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 5種類 x 1本	カラム

* Ca⁺⁺Pure-HAは乾燥品です。Ca⁺⁺Pure-HAは米国産製品であるため、米国輸出規制法令の対象となります

**充填剤は、グレードにより異なる粒子径および異なる容量の製品があります

SkillPakには1 mLカラム(7 mm I.D. x 2.5 cm)と5 mLカラム(8 mm I.D. x 10 cm)があります

1 mLタイプは、入口:「品番0017955オシネ(フェラル付)」を使用、「品番0016566ハンディコネクタ・1/16」(PEEK)は使用不可
出口:メスコネクタに直接接続可能、オスコネクタに接続する場合はユニオン(「品番0017898オシネユニオン」等を使用
5 mLタイプは、入口、出口:「品番0016566ハンディコネクタ・1/16」あるいは「品番0017955オシネ(フェラル付)」を使用



※“TOYOPEARL”、“トヨパール”は日本等における東ソー株式会社の登録商標です。

※“Ca⁺⁺Pure-HA”は日本等における Tosoh Bioscience LLC の登録商標です。

※“SkillPak”は Tosoh Bioscience LLC の製品名です。

※掲載のデータ等は、その数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください。

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎(03) 5427-5180 〒105-8623 東京都港区芝3-8-2
大阪支店 バイオサイエンスG ☎(06) 6209-1948 〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 バイオサイエンスG ☎(052) 211-5730 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
福岡支店 ☎(092) 781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2
仙台支店 ☎(022) 266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
カスタマーサポートセンター ☎(0467) 76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1

バイオサイエンス事業部ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>

HPLC Applications Database <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/applications-database-jp>

お問い合わせE-mail hlc@tosoh.co.jp